

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2005 年 9 月 15 日 (15.09.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/085844 A1

(51) 国際特許分類7: G01N 33/50, A61K 7/00, G01N 33/53

(21) 国際出願番号: PCT/JP2005/004270

(22) 国際出願日: 2005 年 3 月 4 日 (04.03.2005)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2004-062435 2004 年 3 月 5 日 (05.03.2004) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社資生堂 (SHISEIDO COMPANY, LTD.) [JP/JP]; 〒1048010 東京都中央区銀座7丁目5番5号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 岩井 一郎 (IWAI, Ichiro) [JP/JP]; 〒2248558 神奈川県横浜市都筑区早渕

2-2-1 株式会社資生堂 リサーチセンター (新横浜) 内 Kanagawa (JP). 平尾 哲二 (HIRAO, Tetsuji) [JP/JP]; 〒2248558 神奈川県横浜市都筑区早渕 2-2-1 株式会社資生堂 リサーチセンター (新横浜) 内 Kanagawa (JP).

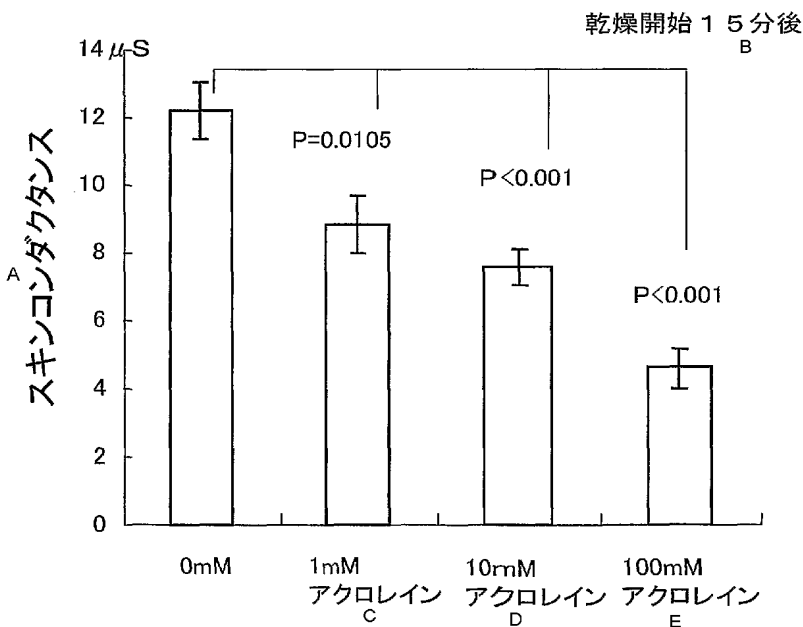
(74) 代理人: 青木 篤, 外(AOKI, Atsushi et al.); 〒1058423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

[続葉有]

(54) Title: METHOD OF EVALUATING THE TRANSPRENCY AND MOISTURE RETENTION OF HORNY LAYER BY USING OXIDIZED PROTEIN IN THE HORNY LAYER AS INDICATION

(54) 発明の名称: 角層中の酸化タンパク質を指標とする角層の透明性・保水性を評価する方法



(57) Abstract: It is intended to provide a method of evaluating the transparency and moisture retention of the horny layer by using oxidized protein in the horny layer as an indication.

(57) 要約: 本発明は、角層中の酸化タンパク質を指標とした角層の透明性・保水性の評価方法を提供する。

A SKIN CONDUCTANCE
B 15 MIN AFTER THE INITIATION OF DRYING
C 1 mM ACROLEIN
D 10 mM ACROLEIN
E 100 mM ACROLEIN



(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各*PCT*ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

添付公開書類:

— 国際調査報告書

明 細 書

角層中の酸化タンパク質を指標とする角層の透明性・保水性を評価する方法

技術分野

本発明は、角層中の酸化タンパク質を指標とした角層の透明性・保水性の評価方法、角層の透明性・保水性を指標とした角層中のタンパク質の酸化度の検出方法、さらには角層中のタンパク質の酸化を抑制することにより、角層の透明性・保水性を保持・向上させる方法に関する。

背景技術

肌質（または皮膚の状態）を的確に把握することは、より健康な皮膚を維持するための的確なスキンケアを行う上で重要である。そのため、化粧品によるスキンケアを実施するに際し、例えば、美容技術者による問診などを通じて、化粧品の使用者の肌質が評価されてきた。また、肌質の客観的な評価を目的として、各種の計測機器を使用して、観察又は測定されるパラメーターにより、皮膚の状態または機能を評価することも行われている。

近年、皮膚の加齢に伴う老化や光老化との関係で、角層酸化タンパク質の研究が盛んに行われている。主な酸化タンパク質として、酸化を受けた結果カルボニル基の導入されたタンパク質があり、一般に、タンパク質におけるLys、Arg、Proといったアミノ酸残基のNH₂基が直接酸化されてカルボニル基となった結果生成されたものと、脂質が酸化して過酸化脂質、更には分解して反応性の高いアルデヒドとなり、それがタンパク質と結合することで生成されたものと

がある。酸化タンパク質は老化関連での研究が豊富にされており、加齢（脳、肝、線維芽細胞）、アルツハイマー病、早老症（Werner症候群）等において増加することが認められている。

皮膚においては、皮膚表面の皮脂がフリーラジカルによって酸化し、過酸化脂質が生成することでタンパク質の酸化は開始され、いったん過酸化脂質が生成されると、酸化は連鎖的に進行し、肌表面に刺激を与えるだけにとどまらず、角質層の奥まで入り込んで細胞にダメージを与えるものと考えられる。従って、皮膚の酸化タンパク質の性状、例えば存在量、分布状態等を評価し、肌質または皮膚の状態を把握し、その後のスキンケア法の方針決定や化粧品の選定のためにその評価結果を何らかの形で活用できるものと期待される。しかしながら、現在のところ、酸化タンパク質と皮膚のダメージとの間に漠然とした関係が存在すると予測されてはいるものの、角層タンパク質の酸化が皮膚の性状に実際にどのような影響を及ぼしているかについては解明されるに至っていない。

発明の開示

皮膚に存在する酸化タンパク質の評価結果を肌質の改善などに活用できれば、皮膚学的・化粧学的側面において極めて有益であると予測され、例えば近年における化粧品業界などで行われている適切なスキンケア法などのアドバイスを目的とするカウンセリングサービスの提供のための有力な手段ともなり得る。

本発明者は、上記事実を鑑み、角層タンパク質が皮膚の性状に及ぼす影響を検討したところ、角層タンパク質の酸化が進行するにつれ角層の保水性及び透明性が失われていくことを見出した。紫外線照射や乾燥、老化などが原因で角層の保水性・透明性が失われることはある程度予想されるが、角層の保水性・透明性の低下に角層タ

ンパク質の酸化が関与していることははじめて見出された事実であり、このような事実の解明は皮膚学的、化粧品学的見地から極めて有意義である。

従って、上記事実の解明に基づき、本発明は第一の観点において、角層中の酸化タンパク質を指標とする、角層の透明性及び／又は保水性を評価するための方法を提供する。好適な態様において、角層酸化タンパク質の検出は、皮膚から採取した角層試料中の酸化タンパク質のカルボニル基を特異的に蛍光標識し、その蛍光を検出することで行う。酸化タンパク質のカルボニル基の特異的な蛍光標識は、好ましくは酸化タンパク質にヒドラジノ基含有蛍光物質、例えばフルオレセイン-5-チオセミカルバジド、テキサスレッドヒドラジドなどを用いて行う。

別の観点からすると、本発明は、角層の透明性及び／又は保水性を指標とする、角層中のタンパク質の酸化度を検出するための方法を提供する。

さらには、本発明は角層中のタンパク質の酸化を抑制することにより、角層の透明性及び／又は保水性を保持・向上させる方法を提供する。

角層タンパク質の酸化が及ぼす肌への影響の解明により、角層酸化タンパク質を指標としたスキンケア手段の提供が可能となる。

図面の簡単な説明

図1はアクロレイン処理による豚皮角層水分保持力の低下を示すグラフである。

図2はアクロレイン処理による豚皮角層水分保持力の低下を示すグラフである。

図3は次亜塩素酸（20mM、1 hn）による豚皮角層水分保持力の低

下を示すグラフである。

図 4 は次亜塩素酸処理によるヒト腕皮膚角層水分保持力の低下を示すグラフである。

図 5 はアクロレイン処理による豚皮角層透明性の低下を示す。

発明を実施するための最良の形態

第一の観点において、本発明は、角層中の酸化タンパク質を指標とする、角層の透明性及び／又は保水性を評価するための方法を提供する。

角層又は肌の「透明性」が高いと、あたかも肌が透き通って見えるような状態になり、美容上きわめて好ましい外観を示すことになる。また、角層又は肌の「保水性」が高い皮膚では肌がみずみずしく、潤いのある健康な状態になる。そのため肌が「透明性」・「保水性」を有することは美容学上極めて重要であり、一般に角層や肌の「透明性」や「保水性」は美容技術者などの美容専門家の主観を頼りとした官能テストや、面倒な操作、高価な装置・設備を必要とする皮膚試料の光学的検査や水分検査などにより行われていた。本発明は角層中の酸化タンパク質を指標とすることで、より詳しくは角層中の酸化タンパク質の存在量、分布状態等を検出することで、角層、ひいては肌の「透明性」・「保水性」をより簡単かつ客観的な手段で調べることを可能とする。

角層酸化タンパク質に関する研究が多々行われており、その検出方法にも様々なものが知られている。本発明において、角層酸化タンパク質の検出方法は特に制限されるものではなく、当業界周知の様々な方法を利用することができる。例えば、J.J.Thiele et al. FEBS Letter 1998 Feb 6, 422(3), 403-406に記載の角層酸化タンパク質の検出方法では、粘着テープを皮膚表層に貼付け、剥がすと

いったいいわゆるテープストリッピング操作を行うことで角層の付着したテープ（「テープ角層」）を獲得し、酸化タンパク質をELISAにて検出する方法である。J.J.Thiele et al. J. Invest. Dermatol. 1999, Sep, 113(3), 335-359に記載の方法は、テープ角層からタンパク質抽出を行い、可溶性成分をDNPH標識し、SDS-PAGEにかけ、抗DNP抗体を用いてウェスタンブロットを行うことで酸化タンパク質の検出を行っている。C.S.Sander et al. J. Invest. Dermatol. 2002, Apr, 118(4), 618-625に記載の方法は、ヒト皮膚組織切片をDNPHで標識し、抗DNPで染色することで酸化タンパク質の検出を行っている。

本発明の好適な態様において、角層酸化タンパク質の検出は、皮膚から採取した角層試料中の酸化タンパク質のカルボニル基を特異的に蛍光標識し、その蛍光を検出することで行う。かかる検出は蛍光顕微鏡下で行うことができる。酸化タンパク質のカルボニル基の特異的な蛍光標識は、好ましくは酸化タンパク質にヒドラジノ基含有蛍光物質、例えばフルオレセイン-5-チオセミカルバジド、テキサスレッドヒドラジドなどを用いて行ってもよい。この方法によれば、例えば蛍光顕微鏡により得た検出結果を画像化することで、皮膚角質層の酸化タンパク質の皮膚上での性状の二次元的な情報を簡易に獲得し、例えば化粧品等の販売の際のカウンセリングサービスにおけるかかる酸化タンパク質の情報の活用を図ることが可能となる。

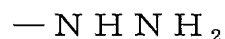
本発明において、皮膚由来の角層試料は、身体のいずれの部分に由来する試料でもよく、また、かような試料（組織もしくは細胞）の培養物であってもよい。該試料の由来する身体の部位または領域の典型例としては、顔面の頬、額、手甲および体幹などを挙げることができる。

このような試料は、所謂、外科的手段等の侵襲的な方法により取得されたものであってもよいが、殊に肌質の評価を目的とする場合には、簡易さを理由に、非侵襲的な方法により皮膚から取得されるものであることが好ましい。非侵襲的な方法としては、当該技術分野で常用されているテープストリッピングや擦過法等を挙げることができる。

テープストリッピングは、皮膚表層に粘着テープ片を貼付、剥がすことを実施することで、皮膚の二次元的状態をその粘着テープにそのまま転写させることができるため、本発明において特に好ましい。テープストリッピングによりテープ角層を採取し、裁断せずにそのままの状態に酸化タンパク質を特異的に蛍光染色すれば、実際の皮膚の二次元的性状に対応した酸化タンパク質の二次元的情報が得られることとなる。

テープストリッピングの好ましい方法は、まず皮膚の表層を例えばエタノールなどで浄化して皮脂、汚れ等を取り除き、適当なサイズ（例えば5×5cm）に切った粘着テープ片を皮膚表面の上に軽く載せ、テープ全体に均等な力を加えて平たく押さえ付け、その後均等な力で粘着テープを剥ぎ取ることで行われる。粘着テープは市販のセロファンテープなどであってよく、例えばScotch Superstrength Mailing Tape（3M社製）等が使用できる。

本発明の好適な態様において利用できる酸化タンパク質のカルボニル基を特異的に蛍光標識する蛍光物質は、酸化タンパク質のカルボニル基に結合できるヒドラジノ基



を有するものが好ましい。そのような蛍光物質の例には、フルオレセイン-5-チオセミカルバジド、テキサスレッドヒドラジドなどが挙げられる。

このようなヒドラジノ基含有蛍光物質を使用する場合、酸化タンパク質の検出は、具体的には、例えば以下のようにして実施できる：

- (1)角層試料を、例えばテープストリッピングにより、採取する；
- (2)これに適当な緩衝液（例えば100mMのMES-Na緩衝液（pH5.5））中のヒドラジノ基含有蛍光物質を室温にて数時間（例えば1時間）反応させる；
- (3)反応終了後に適当な生理溶液（例えば緩衝液リン酸緩衝生理食塩液（PBS））にて十分に洗浄した後、蛍光顕微鏡にて酸化タンパク質を検出する；
- (4)任意的に、蛍光顕微鏡撮影する。

酸化タンパク質の特異的な蛍光標識は、ビオチンヒドラジドと蛍光標識アビジンとの組合わせを用いることもできる。ビオチンヒドラジドもヒドラジノ基を有するため、タンパク質のカルボニル基に結合できる。この場合、まず酸化タンパク質にビオチンヒドラジドを結合させ、しかる後に蛍光標識アビジンをビオチン-アビジン結合を介してビオチンヒドラジドに結合させ、その結果酸化タンパク質は蛍光標識される。ビオチンヒドラジドは当業界においてよく知られ、例えばピアース社から製造販売されているものを使用することができる。また、蛍光アビジンは、例えばフルオレセインアビジンなどが使用できる。

このようなヒドラジノ基含有蛍光物質を使用する場合、酸化タンパク質の検出は、具体的には、例えば以下のようにして実施できる：

- (1)角層試料を、例えばテープストリッピングにより、採取する；

(2)これに適当な緩衝液（例えば100mMのMES-Na緩衝液（pH5.5））中のビオチンヒドラジドを室温にて数時間（例えば1時間）反応させる；

(3)反応終了後に適当な生理溶液（例えば緩衝液リン酸緩衝生理食塩液（PBS））にて十分に洗浄した後、蛍光標識アビジンを室温にて数時間（例えば1時間）反応させる；

(4)蛍光顕微鏡にて酸化タンパク質を検出する；

(5)任意的に、蛍光顕微鏡撮影する。

酸化タンパク質の特異的な蛍光標識は、酸化タンパク質のカルボニル基にジニトロフェニルヒドラジンを作用・結合させ、そのジニトロフェノール部分を蛍光色素で標識することで行うこともできる。従って、本発明の更なる好適な態様では、酸化タンパク質のカルボニル基に結合させたジニトロフェニルヒドラジンのジニトロフェノール部分を蛍光免疫測定法等で検出することができる。

このようなジニトロフェニルヒドラジンを利用して蛍光標識する場合、酸化タンパク質の検出は、具体的には、例えば以下のようにして実施できる：

(1)角層試料を、例えばテープストリッピングにより、採取する；

(2)これに適当な緩衝液（例えば100mMのMES-Na緩衝液（pH5.5））中のジニトロフェニルヒドラジン（DNPH）を室温にて数時間（例えば1時間）反応させる；

(3)反応終了後に適当な生理溶液（例えば緩衝液リン酸緩衝生理食塩液（PBS））にて十分に洗浄した後、抗DNP抗体、例えばウサギDNP抗体（ZYMED社製）の同生理溶液を室温にて数時間（例えば1時間）反応させる；

(4)反応終了後に同生理溶液にて十分に洗浄し、上記抗DNP抗体に

特異的な蛍光標識二次抗体、例えばフルオレセイン標識抗ウサギIg（アマシャムファルマシアバイオテク社製）等を室温にて数時間（例えば1時間）反応させる；

(5) 蛍光顕微鏡にて酸化タンパク質を検出する；

(6) 任意的に、蛍光顕微鏡撮影する。

別の観点からすると、本発明は、角層の透明性及び／又は保水性を指標とする、角層中のタンパク質の酸化度を検出するための方法を提供する。上述のとおり、本発明者は角層タンパク質の酸化が肌の「透明性」・「保水性」に影響を及ぼすことを見出したが、角層タンパク質の酸化は皮膚に肌の老化を含むその他の様々な性状に影響を及ぼしている可能性もある。従って、角層の「透明性」・「保水性」を指標に、角層タンパク質の酸化が原因とする皮膚老化をはじめとする様々なその他の性状の早期発見・対処が可能ともなり得る。上述のとおり、角層や肌の「透明性」や「保水性」は美容技術者などの美容専門家の主観を頼りとした官能テストや、皮膚試料の光学的検査や水分検査などにより行うことができる。

本発明はまた、角層中のタンパク質の酸化を抑制することにより、角層の透明性及び／又は保水性を保持する方法を提供する。角層タンパク質の酸化の抑制は、適当な抗酸化剤、例えばアスコルビン酸、ビタミンEなどの周知の化合物を適当な溶媒に溶解し、肌に適量適用するなどして達成可能である。

以下、具体例を挙げて、本発明を更に具体的に説明する。なお、本発明はこれにより限定されるものではない。

実施例

実験1：角層酸化タンパク質を指標とする角層の「保水性」の評価
(1)

乾燥豚皮（アロアスク、大鵬薬品工業株式会社）を水に 3 日間浸漬した。豚皮を取り出し、0、1、10、100 mM のアクロレイン（東京化成工業株式会社）溶液に 3 時間浸漬して酸化処理した。アクロレインはタンパク質に作用することで酸化させ、アルデヒドタンパク質付加体を生成する。酸化処理後、水で 1 時間洗浄した。洗浄後、角層側を上に向けてシャーレ上で乾燥（湿度 50 %、温度 25 °C）を開始し、15 分後の角層水分量をスキコン 200（アイ・ビー・エス株式会社）で測定した。

角層水分量の結果をスキンコンダクタンス値として、図 1 に示す。図 1 から明らかなとおり、アクロレインによる酸化処理濃度依存的な水分量低下が観察された。すなわち、酸化処理による角層水分保持力の低下が観察された。

実験 2：角層酸化タンパク質を指標とする角層の「保水性」の評価（2）

黒豚皮膚を 10 mM アクロレイン（東京化成工業株式会社）溶液で 1 時間、酸化処理した。水で 1 時間洗浄した後、水分をよく拭き取り、角層水分量の変化をスキコン 200 によって経時で測定した。

その結果を図 2 に示す。アクロレインでの酸化処理により角層水分保持力の低下が豚皮膚で観察された。

実験 3：角層酸化タンパク質を指標とする角層の「保水性」の評価（3）

黒豚皮膚を 20 mM の次亜塩素酸で 1 時間処理した。水で 1 時間洗浄した後、水分をよく拭き取り、角層水分量の変化をスキコンによって経時で測定した。

その結果を図 3 に示す。次亜塩素酸での酸化処理によっても角層水分保持力の低下が豚皮膚で観察された。

実験 4：角層酸化タンパク質を指標とする角層の「保水性」の評価（4）

ヒト腕皮膚を P B S 又は 2 0 m M の次亜塩素酸で 1 時間、閉塞処理した。水で 1 時間洗浄後、水分をよく拭き取り、角層水分量の変化をスキコンによって経時で測定した。

その結果を図 4 に示す。酸化処理による角層水分保持力の低下がヒト皮膚でも観察された。

実験 5：角層酸化タンパク質を指標とする角層の「透明性」の評価

乾燥豚皮（アロテスク、大鵬薬品工業株式会社）を水に 3 日間浸漬した。豚皮を取り出し、0、1、1 0、1 0 0 m M のアクロレイン（東京化成工業株式会社）溶液に 3 時間浸漬して酸化処理した。酸化処理後、水で 1 時間洗浄した。洗浄後、角層側を上に向けてシャーレ上で乾燥（湿度 5 0 %、温度 2 5 ℃）を開始し、2 4 時間かけて乾燥させた豚皮の外観を目視観察した。

その結果を図 5 に示す。図 5 から明らかなとおり、酸化処理を施していない豚皮の透明度は高いのに対し、アクロレインで処理すると、濃度依存的に透明度は低下した。

請 求 の 範 囲

1. 角層中の酸化タンパク質を指標とする、角層の透明性及び／又は保水性を評価するための方法。

2. 皮膚から採取した角層試料中の酸化タンパク質のカルボニル基を特異的に蛍光標識し、その蛍光を検出することで角層酸化タンパク質の検出を行う、請求項1記載の角層の透明性及び／又は保水性を評価するための方法。

3. 角層の透明性及び／又は保水性を指標とする、角層中のタンパク質の酸化度を検出するための方法。

4. 角層中のタンパク質の酸化を抑制することにより、角層の透明性及び／又は保水性を保持・向上させる方法。

Fig. 1

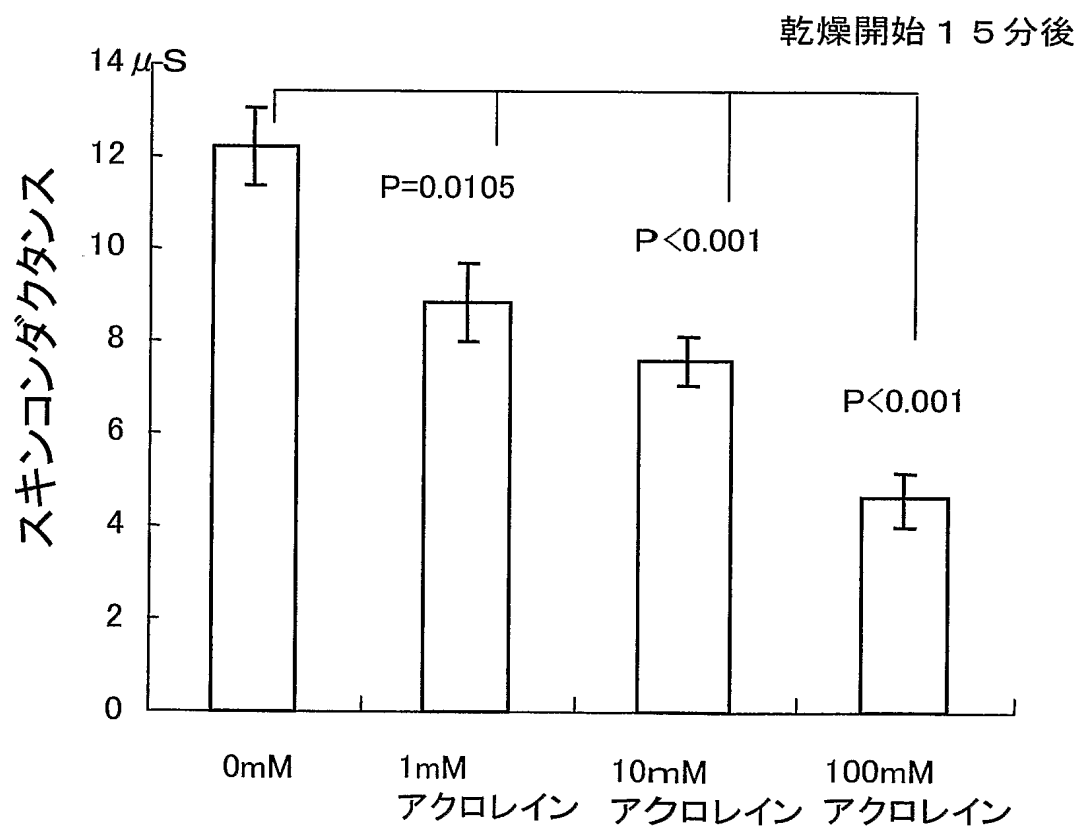


Fig.2

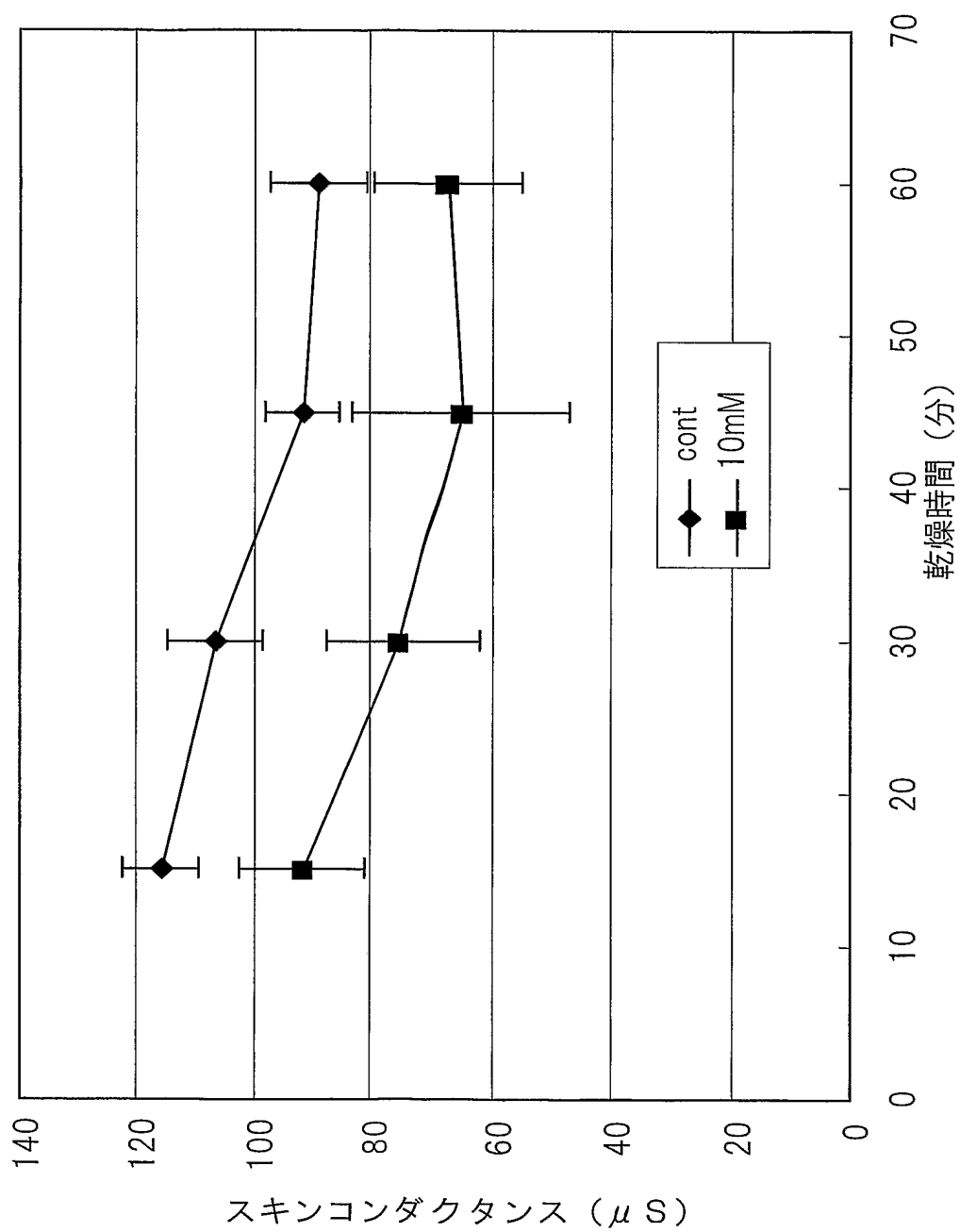


Fig.3

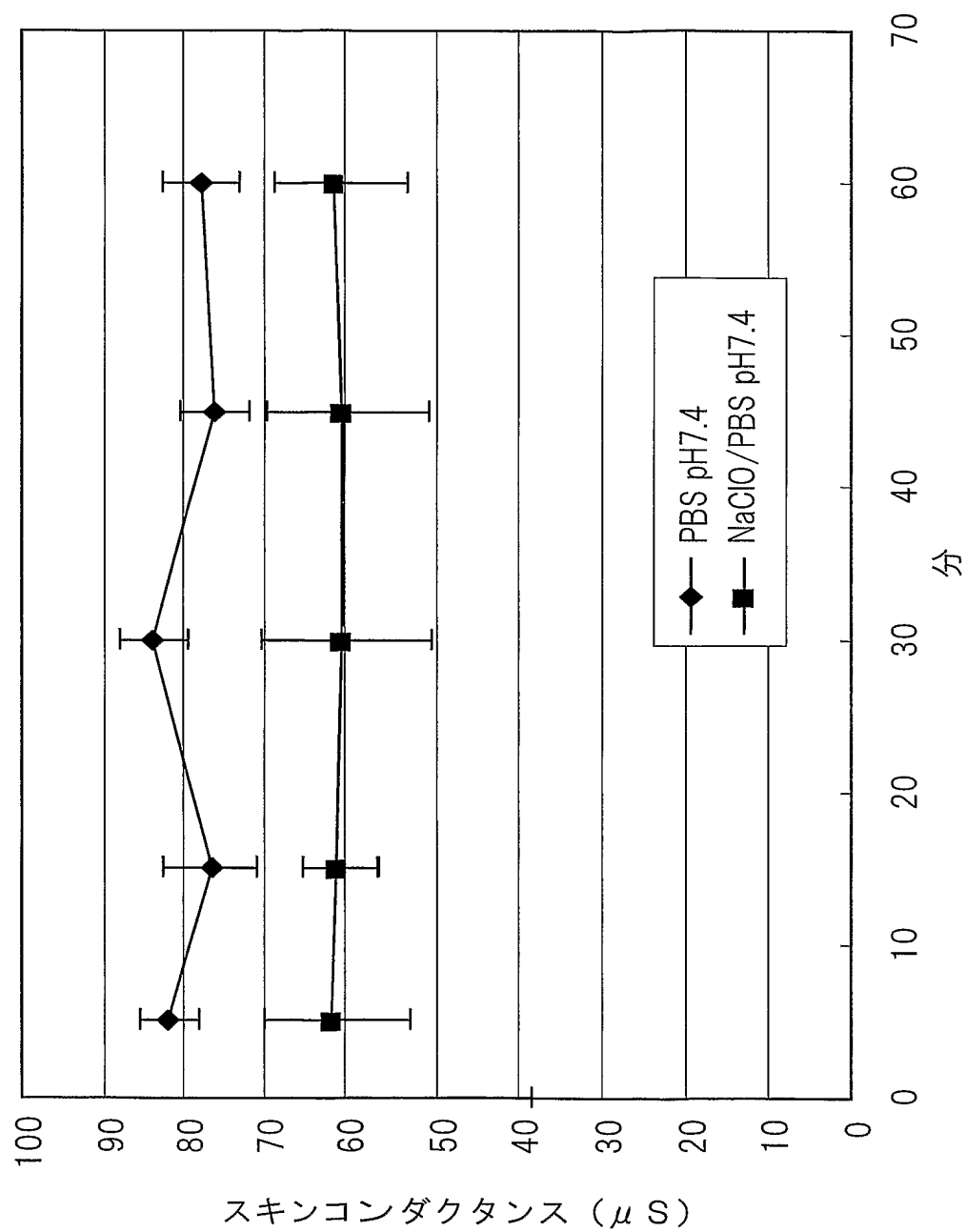


Fig. 4

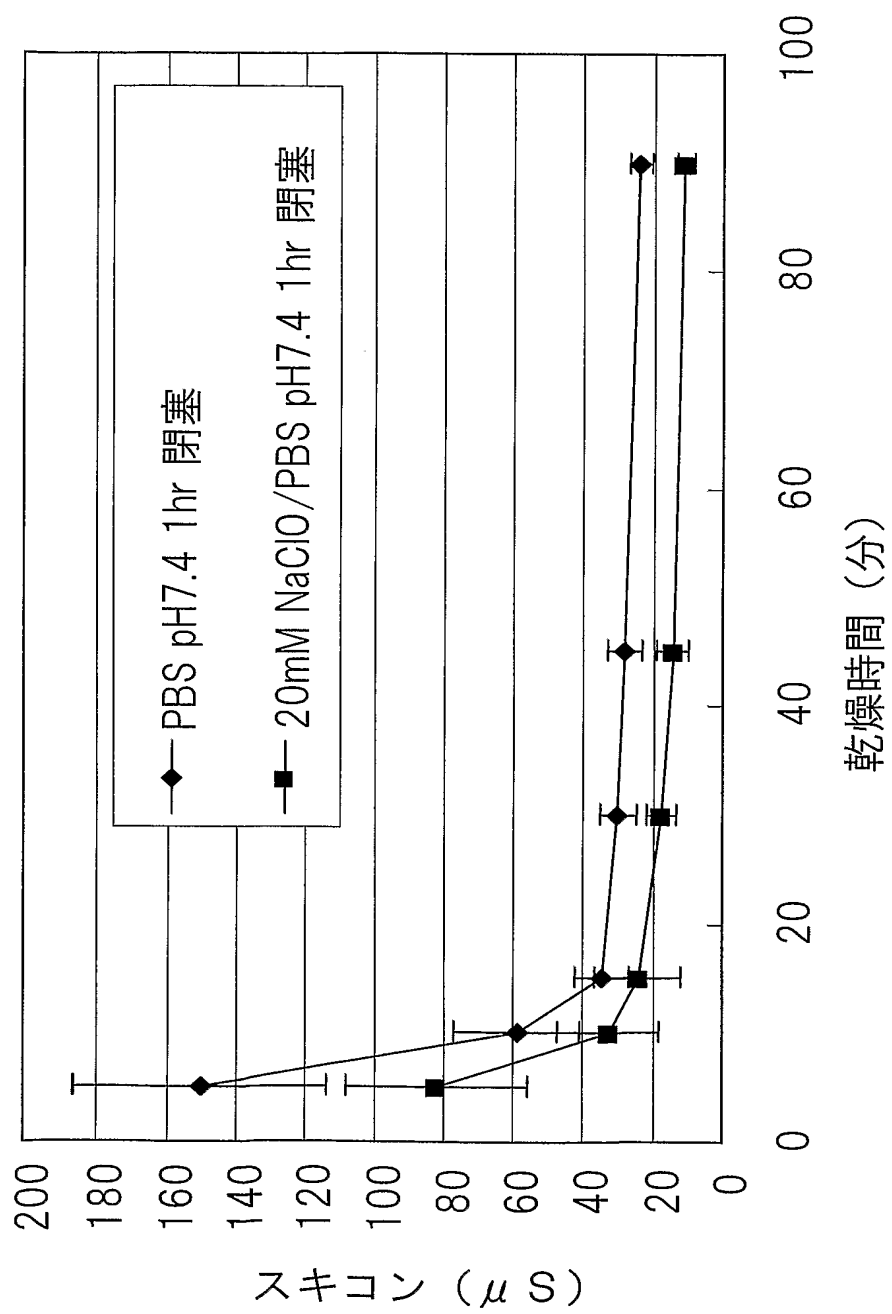
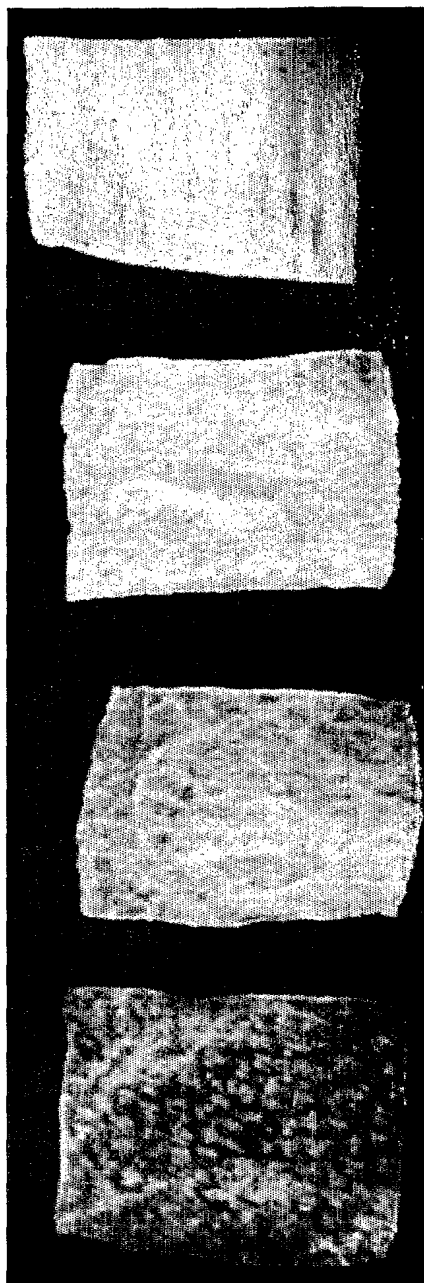


Fig. 5

0mMアクリロイン 1mMアクリロイン 10mMアクリロイン 100mMアクリロイン



50%湿度、25℃、24hr

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/004270

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ G01N33/50, A61K7/00, G01N33/53

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ G01N33/50, A61K7/00, G01N33/53

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2005

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2005 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN), JSTPlus (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Thiele JJ et al., "Macromolecular carbonyls in human stratum corneum: a biomarker for environmental oxidant exposure?" FEBS Lett., 06 February, 1998 (06.02.98), 422(3): 403-6	1-4
P, X	IWAI et al., "Sanka Stress ga Hifu Kakuso Kino ni Oyobosu Eikyo" The Japan Society for Analytical Chemistry Dai 53 Nenkaï Koen Yoshishu, Vol.53rd, 18 August, 2004 (18.08.04), page 307	1-4
P, A	JP 2004-340935 A (Shiseido Co., Ltd.), 02 December, 2004 (02.12.04), & WO 2004/095022 A	1-4



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 May, 2005 (30.05.05)

Date of mailing of the international search report

14 June, 2005 (14.06.05)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/004270

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2002-107688 A (Pola Chemical Industries Inc.), 22 January, 2002 (22.01.02), (Family: none)	1-4
A	JP 2001-091514 A (Shiseido Co., Ltd.), 06 April, 2001 (06.04.01), (Family: none)	1-4

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ G01N33/50, A61K7/00, G01N33/53

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ G01N33/50, A61K7/00, G01N33/53

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN) JSTPlus (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Thiele JJ et al "Macromolecular carbonyls in human stratum corneum: a biomarker for environmental oxidant exposure?" FEBS Lett. 1998 Feb 6;422(3):403-6	1-4
P, X	岩井他「酸化ストレスが皮膚角層機能に及ぼす影響」 日本分析化学会第53年会講演要旨集 Vol.53rd (2004年8月18日) 第307頁	1-4

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

30.05.2005

国際調査報告の発送日

14.6.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

山村 祥子

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

2J

9217

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, A	JP 2004-340935 A (株式会社資生堂) 2004. 12. 02 & WO 2004/095022 A	1-4
A	JP 2002-017688 A (ポーラ化成工業株式会社) 2002. 01. 22 (ファミリーなし)	1-4
A	JP 2001-091514 A (株式会社資生堂) 2001. 04. 06 (ファミリーなし)	1-4